Klotho 蛋白对氧化应激的影响及可能机制

常雅琦[1] 文 敏[1,2] 赵 华[1] 陈小玲[1] 田 刚[1] 刘光芒[1] 蔡景义[1] 贾 刚[1*]

（1.四川农业大学动物营养研究所，成都 611130；2.西藏职业技术学院畜牧兽医系，拉萨 850000）

摘 要：*Klotho* 是一种最近发现的抗衰老基因，它的缺失或突变会导致小鼠在出生 3~4 周后表现出衰老现象，相反，其过表达可增强小鼠的抗氧化能力，并延长小鼠寿命。目前研究表明，Klotho 蛋白发挥抗氧化应激功能可能是通过激活叉头状转录因子 O（FoxO）的转录活性、激活环磷酸腺苷（cAMP）信号通路、激活 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1（Keap1）-核因子 E2 相关因子 2（Nrf2）/抗氧化反应元件（ARE）信号通路来实现的。本文就 *Klotho* 的发现、结构特征、表达及其蛋白与氧化应激之间的关系进行综述，以期为畜牧生产中缓解动物氧化应激提供思路。

关键词：Klotho 蛋白；氧化应激；FoxO；cAMP；Keap1-Nrf2/ARE

中图分类号：R363　　　文献标识码：A　　　文章编号：

研究发现，机体内氧化和抗氧化防御系统之间的平衡受到外界环境的干扰时，便会发生氧化应激。此时，机体组织脂质过氧化水平升高，引发 DNA 氧化损伤，蛋白质表达异常，还可诱导细胞凋亡的发生，是细胞乃至个体衰老的一个重要诱因[1-2]，轻则对机体造成氧化损伤和生产性能下降，重则会诱导炎症发生，影响动物的健康，甚至导致动物发病和死亡[3]。因此，挖掘和利用具有抗氧化功能的基因和蛋白成为当今营养学家重点关注的问题。近年来的研究表明，*Klotho* 基因及其蛋白可以提高机体的抗氧化、抗衰老能力[4]，它是 Kuro-o 等[5]发现的一个与人类衰老密切相关的基因，它在小鼠中的缺失或突变会产生多种类似于人类衰老的表型；相反，该基因的过表达能够延长小鼠的寿命[6]，增强小鼠抵抗氧化应激能力[4]，

收稿日期：2018-02-28

基金项目：四川省科技支撑计划（2013NZ0054）；四川省出国留学回国人员科研活动择优项目

作者简介：常雅琦（1993—），女，河南三门峡人，硕士研究生，从事饲料资源开发及高效利用研究。E-mail: 464852880@qq.com

*通信作者：贾 刚，教授，博士生导师，E-mail: jiagang700510@163.com

表明 *Klotho* 是具有抗细胞凋亡、抗衰老作用的基因。后续研究表明，Klotho 蛋白还具有多种生物学活性，包括参与钙磷稳态[7]、抑制炎症发生[8]、抑制氧化应激和细胞凋亡等。本文主要就 Klotho 蛋白对氧化应激的作用及调控氧化应激的可能机制进行综述，以期为畜牧生产中通过调控 *Klotho* 的表达缓解氧化应激提供理论依据。

1 *Klotho* 的结构及其表达

1.1 *Klotho* 的发现

Klotho 是 Kuro-o 等[5]在模拟人类衰老的小鼠模型上鉴定并发现的新基因，由于它的缺失或突变涉及多种衰老表型，包括生长停滞、寿命缩短、运动功能减退、脑垂体畸形、骨质疏松、皮肤萎缩等，且小鼠于 2 月龄死亡，因此以古希腊神话中纺织生命之线女神的名字——Klotho 命名[5]，以纺织丝线的长度来喻其寿命的长短。

1.2 *Klotho* 的结构和功能

在人类、小鼠、大鼠的 *Klotho* 基因编码区有 5 个外显子和 4 个内含子，分别转录 3 036、3 042、3 042 个碱基的 mRNA。另外，在外显子 3 区有一个可变剪接位点，因此小鼠和人类 *Klotho* 基因编码跨膜型和分泌型 Klotho 蛋白[5,9]。小鼠 *Klotho* 基因定位于染色体的 13q12，其启动子区缺乏 TATA 盒[10]，*Klotho* 启动子中缺失的 TATA 盒与肾特异性钙黏蛋白（Ksp-cadherin）启动子相似[10]。*Klotho* 的 mRNA 存在一个可变剪切位点，因此 *Klotho* 可产生 2 种蛋白：一种是跨膜型 Klotho 蛋白，它由 1 014 个氨基酸组成，包括 N 末端信号序列、C 末端跨膜结构域和短的细胞质结构域以及胞外结构域[11]。跨膜型 Klotho 蛋白与成纤维细胞生长因子受体（FGFR）作为成纤维细胞生长因子 23（FGF23）的共受体，介导 FGF23 发挥生物学活性，从而调节磷代谢稳态[12]。另一种是分泌型 Klotho 蛋白，它由 550 个氨基酸组成，只含有 N 末端信号序列和胞外区 KL1，无胞外区 KL2、跨膜区和胞内区[11]。分泌型 Klotho 蛋白可以抵抗炎症反应、调节生长激素的分泌[13]、抑制氧化应激和细胞凋亡等。

1.3 *Klotho* 基因的表达

小鼠的 *Klotho* 基因在肾脏中高表达，在垂体、胎盘、骨骼肌、膀胱、胰腺、睾丸、卵巢、结肠及内耳等组织中低表达[14-16]，以编码跨膜型 Klotho 蛋白为主[17]；大鼠的 *Klotho* 基因在肾脏中高表达，在脑、肺脏、直肠和性腺等组织中低表达[9,18]，编码跨膜型 Klotho 蛋白；人的 *Klotho* 基因主要表达于肾脏，在胎盘、前列腺和小肠等组织中低表达，主要编码分泌

型 Klotho 蛋白[14,17]。Hsu 等[19]在对小鼠上皮细胞的研究中发现，白藜芦醇处理细胞中 *Klotho* 基因和蛋白呈剂量和时间依赖性显著增加；Mizuno 等[20]利用离体试验中研究了甲状腺激素对 *Klotho* mRNA 表达的影响，发现甲状腺激素可呈剂量和时间依赖性显著增加 3T3-L1 脂肪细胞中跨膜型 *Klotho* mRNA 的表达水平，而分泌型 *Klotho* mRNA 的表达水平有上升趋势但不显著；此外，在成纤维细胞生长因子 2（*FGF*2）转基因小鼠肾脏中，*Klotho* mRNA 和蛋白表达水平显著增加，预示着 *FGF*2 过表达可能增加 *Klotho* 基因和蛋白的表达[21]。

2　Klotho 蛋白对氧化应激的影响

二氢乙啶(dihydroethidium,DHE)可自由透过活细胞膜进入细胞内，并被细胞内的活性氧（reactive oxygen species,ROS）氧化，产生红色荧光。Wang 等[22]通过构建含 *Klotho* 基因的质粒并转染入大鼠主动脉平滑肌（RASM）细胞中使 *Klotho* 基因在细胞中得到表达，并通过 DHE 氧化来评估 RASM 细胞中超氧化物的产生，结果发现转基因组细胞内超氧化物的水平显著低于对照组；他们还用血管紧张素 II 诱导细胞超氧化物的产生，结果发现转基因组细胞内超氧化物的水平同样显著低于对照组。由此可见，Klotho 蛋白可降低细胞内超氧化物水平，进而缓解细胞氧化应激。

机体在有氧代谢过程中产生一系列 ROS，对大多数细胞具有毒性作用，当机体内 ROS 的产生和 ROS 的清除失衡时，就会出现氧化应激。Song 等[23]分别用异丙肾上腺素（isoproterenol，ISO）、ISO 与 Klotho 蛋白刺激 H9c2 心肌细胞，并用 7′-二氯荧光素（7′-dichlorofluorescein，DCF）荧光强度表示细胞中 ROS 水平，其通过流式细胞仪测量，结果发现：与对照组相比，ISO 组 DCF 荧光强度显著升高，Klotho 蛋白组显著降低 ISO 诱导的荧光强度的升高；他们还分别给小鼠注射 ISO、ISO 与 Klotho 蛋白，并用 DHE ROS 检测法检测小鼠心脏 ROS 的产生，结果与心肌细胞的结果相同，Klotho 蛋白显著降低 ROS 的产生。因此，Klotho 蛋白可以显著降低 ROS 的产生，进而减缓细胞或机体的氧化应激。

Yamamoto 等[4]通过试验证明 Klotho 蛋白可以抵抗氧化应激：百草枯是一种可以产生超氧化物的化学物质，在 Hela 细胞中添加百草枯并用荧光探针检测脂质氧化程度，发现添加 Klotho 蛋白的细胞中脂质氧化程度降低；给 *Klotho* 转基因小鼠注射致死剂量的百草枯后发现野生型小鼠的存活率显著低于转基因小鼠；尿 8 羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）是体内 DNA 氧化损伤的生物学标志，研究发现 *Klotho* 转基因小鼠的尿 8-OHdG 含量显著低于野生型小

鼠。因此，无论是体内试验还是体外试验，都证明 Klotho 蛋白可以增加机体对氧化应激的抵抗。

锰超氧化物歧化酶（MnSOD）可以清除超氧阴离子自由基（$O^{2-}\cdot$），提高机体抗氧化能力。他克莫司（tacrolimus，Tac）可诱导氧化应激，用免疫荧光检测法检测小鼠肾脏中 *MnSOD* 的表达量，发现 Tac 处理显著降低了小鼠肾小管细胞线粒体 *MnSOD* 的表达量，且这种作用被 Klotho 蛋白显著抑制[24]。因此，Klotho 蛋白可上调 *MnSOD* 的表达，增强其清除有害自由基的能力，从而保护细胞免受氧化应激的损伤。大量研究表明，氧化应激可诱导细胞凋亡的发生，相反，通过检测凋亡基因的表达可以反映出机体的氧化应激状态。进一步的研究发现，Klotho 蛋白抑制了 Tac 诱导的抑凋亡基因 *Bcl*-2 的表达；通过 Tac 处理后，促凋亡标志物 *Bax*、半胱天冬酶 9（*Caspase*-9）和半胱天冬酶 3（*Caspase*-3）的表达量显著增加，且它们在 Klotho 蛋白处理的细胞中显著降低[24]。因此，Klotho 蛋白可通过调控抑凋亡基因 *Bcl*-2 和促凋亡标志物 *Bax*、*Caspase*-9 和 *Caspase*-3 的表达来调控细胞凋亡的进程，进而反映氧化应激的状态。

3 Klotho 蛋白调控氧化应激的可能机制

3.1 通过激活叉头状转录因子 O（FoxO）

Fox 基因即 *Forkhead*，广泛存在于从酵母到哺乳类真核生物中，其源于果蝇的“叉头”突变，目前已发现的 *Fox* 基因都具有 *Forkhead* 保守区。FoxO 是胰岛素（INS）/胰岛素样生长因子-1（IGF-1）信号通路中重要的信号分子，对下游靶基因的表达起到负调控的作用。那么，FoxO 与氧化应激之间是怎样的关系呢？已知 4-羟基他莫昔芬（4-hydroxytamoxifen，4-OHT）具有激活转录因子 FoxO3a 的作用，Kops 等[25]用过氧化氢（H_2O_2）处理 DL23 静止细胞 50 min 后发现，经 4-OHT 处理过的细胞的氧化程度（ROS 水平）较低；而在癌细胞 DLD-1 中发现，其氧化程度（ROS 水平）非常高，该结果说明细胞内氧化程度（ROS 水平）的降低可通过激活 FoxO3a 来实现。Kops 等[25]进一步研究了经过 4-OHT 处理的 DL23 细胞中 *MnSOD* mRNA 和蛋白的表达水平，结果发现 *MnSOD* 的 mRNA 和蛋白表达水平随着时间的推移而增加。由此可见，FoxO 可通过提高 *MnSOD* 的表达水平、降低细胞内 ROS 水平而抑制氧化应激，那么如何激活 FoxOs 则是至关重要的。

Klotho 蛋白可通过降低 FoxO 的磷酸化，促进其向细胞核转移来激活 FoxO，也可提高

FoxO 的转录活性并促进其下游靶基因 *MnSOD* 的表达。Yamamoto 等[4]用 Klotho 蛋白刺激 Hela 细胞，观察到该蛋白以剂量依赖的方式降低了丝氨酸-苏氨酸激酶（Akt）和 FoxO1 磷酸化的基础水平；蛋白质微阵列分析表明 Klotho 蛋白抑制了 Akt 和 FoxO1 的基础磷酸化水平和胰岛素诱导的 Akt 和 FoxO1 的磷酸化水平，同样也抑制了 FoxO3a 和 FoxO4 的磷酸化水平；此外，他们还用免疫组织化学分析检测了 Klotho 蛋白诱导的 FoxO 磷酸化下降是否与其核转位相关，结果表明 Klotho 蛋白促进 FoxO1 从细胞质转移到细胞核；同时，免疫印迹分析证实，Klotho 蛋白以剂量依赖的方式显著增加核内的 FoxO1 水平。这些观察结果表明 Klotho 蛋白信号可引起 FoxO 的核转位。Yamamoto 等[4]通过使用含有 3 个典型的 FoxO 结合位点的荧光素酶报告基因（*FHRE-Luc*）和含有人锰超氧化物歧化酶（命名为 *SOD*2）基因启动子的 SOD2-Luc 来测量 FoxO 的转录活性，将其转染到 Hela 细胞后发现 Klotho 蛋白显著增加了报告基因和 *SOD*2 基因启动子的表达；染色质免疫共沉淀试验（ChIP）被用来确定转录因子 FoxO1 是否结合到 *SOD*2 的启动子，结果表明 Klotho 蛋白处理显著增加了与 *SOD*2 基因启动子结合的 FoxO1 的量且 Klotho 蛋白可促进 *SOD*2 基因的表达。综上所述，Klotho 蛋白可激活 FoxO，其具体途径如下。

3.1.1 Klotho 蛋白通过抑制 INS/IGF-1 信号通路激活 FoxO

脊椎动物 FoxO 亚家族成员可进一步分为 FoxO1、FoxO3a、和 FoxO4，INS/IGF-1 信号通路对其具有负调控的作用，具体途径见图 1[26]。INS/IGF-1 信号通路引起 Akt 的磷酸化和激活并导致 FoxO 的磷酸化，磷酸化的 FoxO 从细胞核中移除且失活。因此，如何抑制 INS/IGF-1 的信号通路是问题的关键。Kurosu 等[6]用免疫沉淀和免疫印迹的方法研究了 Klotho 蛋白对细胞内 INS/IGF-1 信号通路的影响，结果发现 Klotho 蛋白对该信号通路具有抑制作用。因此，Klotho 蛋白可通过抑制 INS/IGF-1 信号通路激活 FoxO。

Insulin：胰岛素；IGF-1：胰岛素样生长因子-1 insulin-like growth factor-1；receptor：受体；AKT：蛋白激酶 B protein kinase B；FoxO：叉头状转录因子 Forkhead box O；SOD2：锰超氧化物歧化酶 manganese superoxide dismutase；Catalase：过氧化氢酶。

图 1 Klotho 蛋白与 INS/IGF-1 信号通路的关系示意图

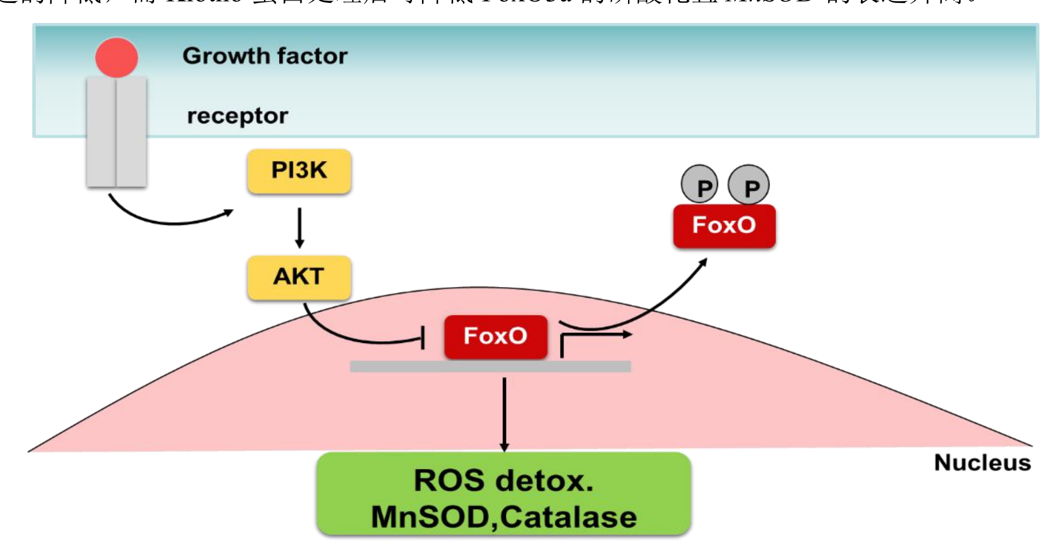
Fig.1 Schematic diagram of the relationship between Klotho protein and INS/IGF-1 signaling pathway[26]

3.1.2 Klotho 蛋白通过抑制 p53/p21 信号通路提高 FoxO 的转录活性

*p*21 基因是位于 *p*53 基因下游的细胞周期素依赖性激酶抑制因子，它可以和 *p*53 共同构成细胞周期 G1 检查站，减少损伤 DNA 的复制和积累，从而发挥抑癌作用[27]。Miyaguchi 等[28]在 COS-7 细胞的研究中发现 p53 与 FoxO3a 之间可以相互作用。由于蛋白与蛋白之间的相互作用会影响 FoxO 的转录活性，因此有必要了解 p53 和 FoxO 在细胞内结合是否影响 FoxO 的转录活性。进一步的研究发现：p53 抑制 FoxO3a 的转录活性，而 FoxO3a 不影响 p53。氧化应激与许多病理生理过程关系密切，是细胞衰老的一个重要诱因。Ikushima 等[29]研究了 Klotho 蛋白是否可以减少过氧化氢诱导的人脐血管内皮细胞（HUVEC）衰老以及 *p*53、*p*21 的表达，结果表明 Klotho 蛋白处理的细胞衰老减弱且 *p*53、*p*21 的表达降低。因此，Klotho 蛋白可通过抑制 p53/p21 信号通路进而提高 FoxO 的转录活性。

3.1.3 Klotho 蛋白通过负调控磷酯酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)信号通路提高 FoxO 的转录活性

FoxO 是 PI3K/AKT 信号通路的下游转录因子，用以调控相应靶基因的表达，途径见图 2[30]。Sun 等[24]使用 HK-2 细胞全细胞裂解物的免疫印迹分析，结果显示 Tac 处理激活 PI3K/AKT 信号通路，从而增加 FoxO3a 的磷酸化（导致失活或保留在细胞质）和 *MnSOD* 表达的降低，而 Klotho 蛋白处理后可降低 FoxO3a 的磷酸化且 *MnSOD* 的表达升高。



Growth factor：生长因子；receptor：受体；PI3K：磷酯酰肌醇 3-激酶 phosphoinositide 3-kinase；AKT：蛋白激酶 B protein kinase B；FoxO：叉头状转录因子 Forkhead box O；Ⓟ：磷酸化 phosphorylation；ROS：活性氧 reactive oxygen species；MnSOD：锰超氧化物歧化酶 manganese superoxide dismutase；Catalase：过氧化氢酶；Nucleus：细胞核。

图 2　Klotho 蛋白通过 PI3K-AKT 信号通路调控 FoxO 示意图

Fig.2　Schematic diagram of regulation of Klotho protein on FoxO by the PI3K-AKT signaling pathway[30]

综上所述，Klotho 蛋白可通过抑制 INS/IGF-1、p53/p21、PI3K/AKT 信号通路来激活 FoxO，降低 ROS 的产生，促进抗氧化靶基因的表达，从而缓解氧化应激。

3.2　Klotho 通过激活环磷酸腺苷（cAMP）信号通路调节 NADPH 氧化酶（Nox）2 蛋白的表达

最近的研究表明，Nox 是脉管系统中 ROS 的主要来源[31]，Nox2（gp91phox）及其同系物（Nox1、Nox4 和 Nox5）是 Nox 的催化亚基。Wang 等[22]研究表明，*Klotho* 基因转移降低了大鼠主动脉平滑肌细胞中 Nox2 蛋白的表达，从而降低细胞内氧化应激水平。Wang 等[22]研究还发现 *Klotho* 基因转移可剂量依赖性地增加大鼠主动脉平滑肌细胞内 cAMP 的水平和蛋白激酶 A（PKA）的活性，降低 Nox2 蛋白的表达；而加入 cAMP 抑制剂后，PKA 的活

性降低，Nox2 蛋白的表达升高。因此，Klotho 蛋白通过 cAMP/PKA 信号途径降低 Nox2 蛋白的表达。

3.3 Klotho 通过激活 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1（Keap1）-核因子 E2 相关因子 2（Nrf2）/抗氧化反应元件（ARE）信号通路发挥抗氧化作用

Keap1-Nrf2 信号通路是细胞内重要的抗氧化通路之一。据报道，*Klotho* 基因的过表达可导致核 Nrf2 的增加和 ARE 的活化[32]，而 ARE 可调控血红素氧合酶 1（HO-1）和过氧化物酶-1（Prx-1）的启动子区域。血红素氧合酶（HO）和过氧化物酶（Prx）都是一种广泛存在的抗氧化酶，在机体抗氧化过程中发挥重要作用[33]。Maltese 等[34]研究了 Klotho 是否有增强人主动脉平滑肌细胞的抗氧化防御作用，结果表明，Klotho 蛋白以剂量依赖的方式显著增加 *Nrf*2、*HO*-1 和 *Prx*-1 的表达；此外，用沉默 RNA（siRNA）敲减 *Nrf*2 后显著减弱了 *Nrf*2、*HO*-1 和 *Prx*-1 的表达。

4 小 结

Klotho 基因在动物体内呈多组织表达特性，它主要调节机体的抗衰老、抗氧化能力。本文综述了 Klotho 蛋白对氧化应激的作用及调节机体抗氧化应激的可能分子机制，其作用机理涉及到 FoxO、cAMP 信号通路以及 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路。氧化应激可造成动物生产过程中的巨大损失，而 Klotho 蛋白的发现及探究其作用机理可为开发新型抗氧化剂、抗炎剂提供理论基础，是否可以通过开发 Klotho 蛋白的过表达产品来缓解动物氧化应激、动物对 Klotho 蛋白是否可以消化吸收还有待深入的研究。此外，有必要进一步研究 Klotho 蛋白在信号转导过程中的作用，进而通过调控 *Klotho* 基因表达来对衰老及衰老相关疾病提供新的治疗方法。

参考文献:

[1] BENZ C C,YAU C.Ageing,oxidative stress and cancer:paradigms in parallax[J].Nature Reviews Cancer,2008,8(11):875–879.

[2] SOHAL R S,ALLEN R G.Oxidative stress as a causal factor in differentiation and aging:a unifying hypothesis[J].Experimental Gerontology,1990,25(6):499–522.

[3] LYKKESFELDT J,SVENDSEN O.Oxidants and antioxidants in disease:oxidative stress in farm animals[J].The Veterinary Journal,2007,173(3):502–511.

[4] YAMAMOTO M,CLARK J D,PASTOR J V,et al.Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho[J].Journal of Biological Chemistry,2005,280(45):38029–38034.

[5] KURO-O M,MATSUMURA Y,AIZAWA H,et al.Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing[J].Nature,1997,390(6655):45–51.

[6] KUROSU H,YAMAMOTO M,CLARK J D,et al.Suppression of aging in mice by the hormone Klotho.[J].Science,2005,309(5742):1829–1833.

[7] HUANG C L,MOE O W.Klotho:a novel regulator of calcium and phosphorus homeostasis.[J].Pflügers Archiv-European Journal of Physiology,2011,462(2):185–193.

[8] LIU F,WU S,REN H W,et al.Klotho suppresses RIG-I-mediated senescence-associated inflammation[J].Nature Cell Biology,2011,13(3):254–262.

[9] MATSUMURA Y,AIZAWA H,SHIRAKI-IIDA T,et al.Identification of the human *Klotho* gene and its two transcripts encoding membrane and secreted *Klotho* protein[J].Biochemical and Biophysical Research Communications,1998,242(3):626–630.

[10] WHYTE D A,LI C Y,THOMSON R B,et al.Ksp-cadherin gene promoter. Ⅰ .Characterization and renal epithelial cell-specific activity[J].American Journal of Physiology,1999,277(4 Pt 2):F587–F598.

[11] SHIRAKI-IIDA T,AIZAWA H,MATSUMURA Y,et al.Structure of the mouse klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted protein[J].FEBS Letters,1998,424(1/2):6–10.

[12] OLAUSON H,VERVLOET M G,COZZOLINO M,et al.New insights into the FGF23-Klotho axis[J].Seminars in nephrology,2014,34(6):586–597.

[13] SHAHMOON S,RUBINFELD H,WOLF I,et al.The aging suppressor klotho:a potential regulator of growth hormone secretion[J].American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism,2014,307(3):E326–E334.

[14] LI S A,WATANABE M,YAMADA H,et al.Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain,kidney,and reproductive organs of mice[J].Cell Structure and Function,2004,29(4):91–99.

[15] KAMEMORI M,OHYAMA Y,KURABAYASHI M,et al.Expression of Klotho protein in the inner ear[J].Hearing Research,2002,171(1/2):103–110.

[16] TAKESHITA K,FUJIMORI T,KUROTAKI Y,et al.Sinoatrial node dysfunction and early unexpected death of mice with a defect of *klotho* gene expression[J].Circulation,2004,109(14):1776–1782.

[17] OHYAMA Y,KURABAYASHI M,MASUDA H,et al.Molecular cloning of rat *klotho* cDNA:markedly decreased expression of *klotho* by acute inflammatory stress[J].Biochemical & Biophysical Research Communications,1998,251(3):920–925.

[18] BEN-DOV I Z,GALITZER H,LAVI-MOSHAYOFF V,et al.The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats[J].Journal of Clinical Investigation,2007,117(12):4003–4008.

[19] HSU S C,HUSNG S M,CHEN A,et al.Resveratrol increases anti-aging *Klotho* gene expression via the activating transcription factor 3/c-Jun complex-mediated signaling pathway[J].The International Journal of Biochemistry & Cell Biology,2014,53:361–371.

[20] MIZUNO I,TAKAHASHI Y,OKIMURA Y,et al.Upregulation of the *klotho* gene expression by thyroid hormone and during adipose differentiation in 3T3-L1 adipocytes[J].Life Sciences,2001,68(26):2917–2923.

[21] XIAO L P,NAGANAWA T,LORENZO J,et al.Nuclear isoforms of fibroblast growth factor 2 are novel inducers of hypophosphatemia via modulation of FGF23 and KLOTHO[J].Journal of Biological Chemistry,2010,285(4):2834–2846.

[22] WANG Y H,KURO-O M,SUN Z J.*Klotho* gene delivery suppresses *Nox*2 expression and attenuates oxidative stress in rat aortic smooth muscle cells via the cAMP-PKA pathway[J].Aging Cell,2012,11(3):410–417.

[23] SONG S,SI L Y.Klotho ameliorated isoproterenol-induced pathological changes in cardiomyocytes via the regulation of oxidative stress[J].Life Sciences,2015,135:118–123.

[24] SUN W L,LONG J,KANG L,et al.Klotho enhances FoxO3-mediated manganese superoxide dismutase expression by negatively regulating PI3K/AKT pathway during tacrolimus-induced oxidative stress[J].Cell Death & Disease,2017,8(8):e2972.

[25] KOPS G J P L,DANSEN T B,POLDERMAN P E,et al.Forkhead transcription factor FOXO3a protects quiescent cells from oxidative stress[J].Nature,2002,419(6904):316–321.

[26] KURO-O M.Klotho as a regulator of oxidative stress and senescence[J].Biological Chemistry,2008,389(3):233–241.

[27] INOUE T,KATO K,KATO H,et al.Level of reactive oxygen species induced by p21Waf1/CIP1 is critical for the determination of cell fate[J].Cancer Science,2009,100(7):1275–1283.

[28] MIYAGUCHI Y,TSUCHIYA K,SAKAMOTO K.P53 negatively regulates the transcriptional activity of FOXO3a under oxidative stress[J].Cell Biology International,2009,33(8):853–860.

[29] IKUSHIMA M,RAKUGI H,ISHIKAWA K,et al.Anti-apoptotic and anti-senescence effects of Klotho on vascular endothelial cells[J].Biochemical and Biophysical Research Communications,2006,339(3):827–832.

[30] OELLERICH M F,POTENTE M.FOXOs and sirtuins in vascular growth,maintenance,and aging[J].Circulation Research,2012,110(9):1138–1251.

[31] GRIENDLING K K,SORESCU D,USHIO-FUKAI M.NAD(P)H oxidase:role in cardiovascular biology and disease[J].Circulation Research,2000,86(5):494–501.

[32] HSIEH C C,KURO-O M,ROSENBLATT K P,et al.The ASK1-signalosome regulates p38 MAPK activity in response to levels of endogenous oxidative stress in the Klotho mouse models of aging[J].Aging,2010,2(9):597–611.

[33] ISHII T,WARABI E,YANAGAWA T.Novel roles of peroxiredoxins in inflammation,cancer and innate immunity.[J].Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition,2012,50(2):91–105.

[34] MALTESE G,PSEFTELI P M,RIZZO B,et al.The anti-ageing hormone klotho induces Nrf2-mediated antioxidant defences in human aortic smooth muscle cells[J].Journal of Cellular and Molecular Medicine,2017,21(3):621–627.

Effects and Molecular Mechanisms of Klotho Protein on Oxidative Stress

CHANG Yaqi[1] WEN Min[1,2] ZHAO Hua[1] CHEN Xiaoling[1] TIAN Gang[1] LIU

Guangmang[1] CAI Jingyi[1] JIA Gang[1*]

(1. *Institute of Animal Nutrition*, *Sichuan Agricultural University*, *Chengdu* 611130, *China*; 2. *Tibet Vocational Technical College*, *Lasa* 850000, *China*)

Abstract: The delection or mutation of *Klotho*, a newly identified anti-aging gene, can cause 3~4 week-old mice to show senescence. On the contrary, the overexpression of *Klotho* can enhance the antioxidant capacity of mice and prolong lifespan. The present study show that Klotho protein may play an antioxidant stress role by activating forkhead transcription factor O (FoxO) transcriptional activity, cyclic adenosine monophosphate （cAMP） signaling pathway and Kelch-like ECH-associated protein 1(Keap1)–nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2)/antioxidant response element (ARE) signaling pathway. This review summarizes the discovery, structure, expression of *Klotho* and the relationship between Klotho protein and oxidative stress in order to provide ideas for alleviating oxidative stress in maintaining the health of livestock and poultry.

Key words: Klotho protein; oxidative stress; FoxO; cAMP; Keap1-Nrf2/ARE

---

*Corresponding author, professor, E-mail: jiagang700510@163.com （责任编辑 菅景颖）